10月 October
2019, 62(10): 1172－1185

昆　虫　学　报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA

http: //www.insect.org.cn
doi: 10.16380/j.kcxb.2019.10.006

取食不同食物对小菜蛾幼虫肠道细菌多样性的影响

吴晓露[1,2,3]，夏晓峰[1,2,3,*]，陈俊晖[1,2,3]，Geoff M. GURR[4,*]，尤民生[1,2,3,*]

（1. 福建农林大学应用生态研究所，闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室，福州 350002；2. 福建农林大学，农业部闽台作物有害生物综合治理重点实验室，福州 350002；3. 福建农林大学，害虫绿色防控福建省高等学校重点实验室，福州 35002；4. Graham Centre, Charles Sturt University, Orange, NSW 2800, Australia）

摘要：【目的】植食性昆虫肠道细菌的组成与其食物密切相关。本研究旨在探究小菜蛾 *Plutella xylostella* 幼虫肠道细菌多样性与其取食食物之间的关系以及它们之间相互适应的过程。【方法】本研究选取小菜蛾人工饲料品系(S)及其转寄主到结球甘蓝 *Brassica oleracea* var. *capitata*、结球白菜 *Brassica rapa* subsp. *pekinensis* 和花椰菜 *Brassica olerocea* var. *botrytis* 饲养后第1代(分别为G1C, G1CC和G1WC)和第3代(分别为G3C, G3CC和G3WC)的4龄幼虫，提取小菜蛾肠道细菌基因组DNA，利用Illumina MiSeq二代高通量测序技术，分析其肠道细菌多样性和丰度。【结果】α多样性指数分析发现，取食不同食物的小菜蛾4龄幼虫肠道细菌多样性高低顺序为G1WC > G1CC > S > G1C。在菌群组成上，以人工饲料为食的S样品肠道细菌主要由厚壁菌门(Firmicutes)组成，转寄主植物后的G1C, G1CC和G1WC肠道中厚壁菌门(Firmicutes)相对丰度显著下降，G1C和G1CC小菜蛾肠道中变形菌门(Proteobacteria)相对丰度显著上升成为优势菌群，G1WC肠道中拟杆菌门(Bacteroidetes)成为优势菌群。在寄主植物上连续饲养3代后，与第1代相比，小菜蛾肠道细菌α多样性指数没有显著性改变，但在结球甘蓝和结球白菜上小菜蛾肠道菌群结构却发生了变化，相比G1C，G3C肠道中芽孢杆菌目(Bacillales)的相对丰度显著下降；相比G1CC, G3CC肠道中放线菌门(Proteobacteria)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)和硝化螺旋菌门(Nitrospirae)的相对丰度均显著上升。【结论】取食人工饲料和不同寄主植物的小菜蛾幼虫肠道细菌多样性和群落构成存在显著差异，寄主植物对小菜蛾肠道微生物的结构组成具有重要的影响，且小菜蛾肠道微生物对寄主植物可能存在一个长期适应的过程。本研究为进一步探讨影响小菜蛾肠道细菌变化的因素，以及后续研究肠道细菌与寄主植物之间的互作奠定了良好的基础。

关键词：小菜蛾；食物；寄主植物；肠道细菌；微生物多样性；高通量测序

中图分类号：Q965.8　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**0454-6296(2019)10-1172-14

Effects of different diets on the diversity of larval gut bacteria of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae)

WU Xiao-Lu[1,2,3], XIA Xiao-Feng[1,2,3,*], CHEN Jun-Hui[1,2,3], Geoff M. GURR[4,*], YOU Min-Sheng[1,2,3,*] (1. State Key Laboratory of Ecological Pest Control for Fujian and Taiwan Crops, Institute of Applied Ecology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2. Key Laboratory of Integrated Pest Management for Fujian-Taiwan Crops, Ministry of Agriculture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 3. Key Laboratory of Green Control of Insect Pests, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 4. Graham Centre, Charles Sturt University, Orange, NSW 2800, Australia)

基金项目：国家重点研发计划(2017YFE0122000)；福建省重大科研专项(2018NZ0002-1)；福建农林大学“校杰青基金”(XJQ201624)

作者简介：吴晓露，女，1993年11月生，山东临沂人，硕士研究生，研究方向为昆虫生态与害虫综合治理，E-mail: xiaoluwu@163.com

* 通讯作者 Corresponding authors, E-mail: ggurr@csu.edu.au; msyou@fafu.edu.cn; bioxxf@163.com

收稿日期 Received: 2019-04-09；接受日期 Accepted: 2019-07-19

Abstract:【Aim】The composition of the gut bacteria in herbivorous insects is closely related to their foods. This study aims to address the relationship and mutual adaptation between the diversity of larval gut bacteria of *Plutella xylostella* and its diets.【Methods】The gut bacterial DNA was extracted from the 4th instar larvae of *P. xylostella* feeding on artificial diet (S) and the larvae shifted from artificial diet to feeding on cabbage *Brassica oleracea* var. *capitata*, Chinese cabbage *Brassica rapa* subsp. *pekinensis* and cauliflower *Brassica oleracea* var. *italic* for one generation (G1C, G1CC and G1WC, respectively), and three generations (G3C, G3CC and G3WC, respectively). The diversity and abundance of gut bacteria was then analyzed based on Illumina MiSeq of the 2nd generation high-throughput sequencing technology.【Results】The α-diversity index analysis indicated that the gut bacterial diversity of the 4th instar larvae of *P. xylostella* feeding on different diets was ranked as G1WC > G1CC > S > G1C. Firmicutes was the major phylum of the gut bacteria in sample S, while the relative abundance of Firmicutes in G1C, G1CC and G1WC decreased significantly. The relative abundance of Proteobacteria increased as the major phylum in G1C and G1CC, and that of Bacteroidetes increased as the dominant phylum in G1WC. No significant differences in terms of the α-diversity index of gut bacteria of *P. xylostella* were observed between the 1st and the 3rd generation of larvae feeding on all the host plants. However, the relative abundance of a few bacterial phyla had significant differences between the 1st and the 3rd generation of larvae feeding on cabbage and Chinese cabbage. Compared with G1C, G3C had a significantly reduced relative abundance of Bacillales. Similarly, the relative abundance of Proteobacteria, Gemmatimonadetes and Nitrospirae in G3CC was significantly increased as compared with that in G1CC.【Conclusion】The gut bacterial diversity and community composition of *P. xylostella* larvae reared on artificial diet and different host plants vary significantly. Host plants have a great influence on the structure and composition of the gut microbes of *P. xylostella*, which may have a long-term adaptation process to host plants. This should be a case study for the factors that influence gut bacteria of *P. xylostella*, and may provide insights into the interactions between gut bacteria and different host plants.

Key words: *Plutella xylostella*; food; host plant; gut bacteria; microbial diversity; high-throughput sequencing

昆虫肠道微生物是宿主昆虫重要的“器官”，参与摄食、消化、排泄和繁殖等生理活动(Sharon *et al*., 2010, 2011; Wu *et al*., 2016)，在抵御外界病原物的入侵和定殖(Vollaard and Clasener, 1994; Takatsuka and Kunimi, 2000)、降解有害物质、产生抗药性(Paramasiva *et al*., 2014)以及种间通讯等方面都发挥了重要作用(Wada-Katsumata *et al*., 2015)。前期研究发现棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 幼虫肠道微生物的组成和植物叶际细菌群落相似，表明食物是肠道微生物的重要来源(Priya *et al*., 2012)。在鳞翅目昆虫舞毒蛾 *Lymantria dispar* 的研究中发现，取食同一种食物的舞毒蛾，其肠道微生物组成具有高度相似性；取食不同食物的舞毒蛾，其肠道微生物组成存在显著差异(Broderick *et al*., 2004)。在对松异舟蛾 *Thaumetopoea pityocampa* 的研究中也发现，以地中海松 *Pinus halepensis* 为食的松异舟蛾肠道中变形菌门(Proteobacteria)的丰度低于以欧洲黑松落叶松亚种 *Pinus nigra* subsp. *laricio* 或海岸松 *Pinus pinaster* 为食的松异舟蛾，表明食物是影响昆虫肠道微生物的重要因素，且变形菌门(Proteobacteria)的丰度可能与食物相关联(Strano *et al*., 2018)。在另一些昆虫的研究中，如向芸庆等(2010)研究以桑叶和拓叶为食的家蚕 *Bombyx mori* 发现，以不同植物为食的家蚕肠道优势菌群不同。Kim 等(2017)对松墨天牛 *Monochamus alternatus* 的研究发现，取食自然食物的松墨天牛幼虫肠道中，肠球菌属 *Enterococcus* 是其优势菌属，而取食人工饲料的松墨天牛幼虫肠道中，乳球菌属 *Lactococcus* 是其优势菌属。Mikaelyan 等(2015)研究表明，食物是高等白蚁 *Nasutitermes takasagoensis* 肠道菌群结构的决定因素。Pérez-Cobas 等(2015)利用 3 种蛋白质含量(分别为 0, 24% 和 50%)不同的食物喂养德国小蠊 *Blattella germanica* 也发现，其肠道菌群具有高度多态性，在短时间内，菌群组成可能与特定食物

有关。

小菜蛾 *Plutella xylostella* 属于鳞翅目(Lepidoptera)菜蛾科(Plutellidae),喜食白菜、甘蓝、萝卜等十字花科作物,是危害十字花科作物的世界性害虫。在全球范围内,每年因小菜蛾造成的经济损失高达 40 ~ 50 亿美元(Furlong *et al*., 2013),仅在中国,每年的损失就高达 7.7 亿美元(Li *et al*., 2016)。当前已经有较多研究关注小菜蛾肠道微生物,如 Xia 等(2013)研究了小菜蛾幼虫肠道细菌的多样性;沈金红等(2018)发现肠道细菌对小菜蛾的生长发育具有促进作用;Li 等(2017)发现肠道成团泛菌 *Pantoea* sp. 具有代谢氮、碳、硫和磷的功能;Xia 等(2017)发现阴沟肠杆菌 *Enterobacter cloacae*、阿式肠杆菌 *Enterobacter asburiae* 和肉杆菌 *Carnobacterium maltaromaticum* 在植物细胞壁的破坏、植物酚类物质的解毒以及氨基酸合成等方面发挥重要作用;Indiragandhi 等(2008)发现肠道不动杆菌属 *Acinetobacter*、假单胞菌属 *Pseudomonas* 和沙雷氏菌属 *Serratia* 对植物生长具有促进作用。此外,前期研究还发现肠道菌群与宿主抗药性相关联;李文红等(2018)发现溴氰菊酯敏感品系小菜蛾肠道细菌多样性和丰富度显著高于抗性品系;Ramya 等(2016)的研究也表明小菜蛾肠道细菌能够通过产生脂酶降解茚虫威杀虫剂;Xia 等(2018)的研究也表明肠道细菌能够介导宿主小菜蛾对农药毒死蜱的抗性。然而目前为止,关于肠道细菌多样性与食物之间的关系如何?小菜蛾肠道细菌对不同食物是否具有一个逐渐适应的过程?这些问题均少有报道,本研究采用 Illumina MiSeq 二代高通量测序方法,分析以不同寄主植物为食的小菜蛾肠道细菌的组成和结构,比较不同寄主植物间影响肠道菌群结构和多样性的差异,并对肠道细菌的功能进行预测,以期为后续深入研究小菜蛾肠道细菌和寄主植物间的互作提供基础和思路。

1 材料与方法

1.1 小菜蛾饲养

本实验所用的小菜蛾为福建农林大学应用生态研究所实验室人工饲料品系,已在实验室饲养超过 60 代,将人工饲料品系小菜蛾的卵转移到寄主植物结球白菜 *Brassica rapa* subsp. *pekinensis*、花椰菜 *Brassica olerocea* var. *botrytis* 和结球甘蓝 *Brassica oleracea* var. *capitata* 上,每 3 d 更换一次寄主植物,连续饲养 3 代。寄主植物采用水培方式进行培养,在含有营养液的定植盆上育苗,当植物长出 2 ~ 3 片叶时,将寄主植物移至容积 500 mL 含有营养液的塑料瓶(高 22 cm,直径 5.2 cm,瓶口直径 2.2 cm)中,单株培育,并在塑料瓶上用黑色胶带缠封,以防止青苔生长,待植株长出 5 ~ 6 片叶时即可用于饲养小菜蛾。小菜蛾种群饲养的环境温度为 23 ~ 25℃,光周期 16L: 8D,小菜蛾成虫喂食 10% 的蜂蜜水。结球白菜、花椰菜和结球甘蓝种子分别购买于福州永荣种业有限公司、长春市航然种业有限公司和邢台华丰种业有限公司;水培营养液(霍格兰德式配方)购于北京溪青春农业科技有限公司。

1.2 小菜蛾肠道细菌基因组 DNA 的提取

随机选择人工饲料饲养的小菜蛾品系(S)及其转结球甘蓝、结球白菜和花椰菜饲养后的第 1 代(分别为 G1C, G1CC 和 G1WC)和第 3 代(分别为 G3C, G3CC 和 G3WC)的体型大小一致、生长健康的 4 龄幼虫各 50 头,每组设置 3 个重复。小菜蛾幼虫饥饿 2 h 后,经过无菌水漂洗,75% 酒精表面消毒 90 s,2 次无菌水漂洗后在体视显微镜下无菌解剖小菜蛾肠道,并将小菜蛾肠道溶于 200 μL 无菌水中,整个过程均在无菌条件下进行。震荡仪 20 Hz/min 5 min,破碎小菜蛾肠道组织并混匀,小菜蛾肠道细菌宏基因组 DNA 提取采用 PowerSoil DNA Isolation Kit(MO BIO, 12888-100)试剂盒,具体提取步骤参照试剂盒说明书。用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测提取的宏基因组 DNA。

1.3 小菜蛾肠道细菌 16S rDNA 扩增和测序

使用细菌 V3-V4 区 PCR 通用引物,F 引物: 5′-CAAGCAGAAGACGGCATACGAGATGTGACTGGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCT(barcode)ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3′; R 引物: 5′-AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACTCTTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCT(barcode)GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3′(Fadrosh *et al*., 2014)。利用不同标签作为样品区分。PCR 反应所用的高保真酶为 Phusion High-Fidelity PCR Master Mix, PCR Mix Buffer 为高保真酶和 Buffer 的混合液,PCR 反应体系(50 μL): PCR Mix Buffer 25 μL, DMSO 3 μL, F/R 引物(10 nmol/L)各 3 μL, DNA (5 ng/μL) 10 μL, Nuclease-Free Water 补齐到 50 μL。PCR 反应条件:预变性 98℃ 30 s; 98℃ 变性 15 s, 58℃ 退火 15 s, 72℃ 延伸 15 s,共 30 个循环;72℃ 终延伸 1 min, 4℃ 保存,用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物,使用磁珠纯化

方法对 PCR 产物进行纯化。

将纯化过后的产物在 NanoDrop（Thermo，2000c）上检测浓度，各样品等量混和，2% 琼脂糖凝胶电泳对混和样进行电泳检测，采用 Axygen Gel Extraction Kit（AP-GX-250G）胶回收试剂盒回收。

1.4 文库构建和测序

对 1.3 节 PCR 扩增产物进行序列末端修复，在 3′端添加 A 碱基，通过磁珠筛选纯化文库体系。对添加接头后的 DNA 进行 PCR 扩增富集文库，利用磁珠纯化法进一步纯化文库，用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测文库纯化结果。用 Qubit 2.0（Life tech，Q32851）对回收的文库进行定量，并用核酸分析仪（Agilent，2100）确定文库大小。使用 qPCR（Eppendorf，Realplex4S）检测接头效率，根据所得效率算出实际浓度后，将文库按照上机要求稀释到一定浓度后，进行 Illumina MiSeq（MS-102-3003）上机测序（厦门融今生物科技有限公司）。

1.5 序列数据分析

将 1.4 节 Illumina MiSeq 测序得到的原始数据去除接头序列，并将双端测序序列进行拼接。根据标签 barcode 序列区分不同的样本。过滤低质量序列和无法比对到 16S rDNA 数据库的序列。

使用 QIIME（版本 1.9.0）读取拼接后的序列，并进行 Tags 过滤，使用 Vsearch（version 1.11.1）对处理后得到的 clean tags 序列与数据库比对，去除嵌合体序列，得到最终有效数据（valid tags）。QIIME 软件的 cluster 方法根据 97% 的序列相似度，将所有序列进行同源比对并聚类成 OTUs（operational taxonomic units）。使用 SILVA128 对各个数据集进行物种注释分析。

利用 QIIME 软件计算 α 多样性指数，包括 ACE，Chao1，Simpson 指数和 Shannon 指数。基于 KEGG 数据库，通过 PICRUSt 软件对样品细菌群落代谢功能进行预测。实验数据用平均值 ± 标准差（mean ± *SD*）表示，使用 Graphpad Prism 软件（版本 6.01）制图；利用 SPSS（版本 21.0）因子分析中的主成分分析功能，在门水平上，对 Top10 菌门的丰度进行 KMO（Kaiser-Meyer-Olkin）和 Bartlett 球形检验后，进行主成分分析；各样品肠道细菌 α-多样性指数、细菌组成和细菌群落功能分析中，多组数据间利用 SPSS 单因素方差分析（One-way ANOVA），两两数据间的比较使用独立样本 *T* 检验进行分析（$P < 0.05$ 表明有显著差异）；基于平均分类距离（average taxonomic distance），利用 NTsys 软件（版本 2.10）对样品进行 UPGMA（unweighted pair-group method with arithmetic mean）聚类分析。

2 结果

2.1 小菜蛾肠道细菌基因组测序结果分析

小菜蛾幼虫肠道细菌 16S rDNA 文库测序共获得 372 454 条 reads（NCBI SRA 数据库序列登录号：SRR8760211 – SRR8760231），经过优化后共剩余 356 748条有效 reads，根据 97% 的序列相似度对所有序列进行同源比对，共聚类成 3 251 个 OTUs，每个样品平均 464 个 OTUs（110 ~ 1 355 OTUs）（表 1）。在门的水平，共有 2 909 个 OTUs（89.47%）被检测到；在纲水平，共有 2 861 个 OTUs（88.01%）被检测到；在目水平，共有 2 443 个 OTUs（74.33%）被检测到；在科（51.56%）、属（20.29%）和种（3.48%）水平上检测到的 OTU 数量快速下降（图 1）。从样品稀释曲线看，随着测序数量的增加，曲线由陡然上升趋向平缓，随后进入平台期（图 2），说明本次实验 21 个样本测序所检测到的微生物接近样品中微生物的真实情况。

表 1 小菜蛾 4 龄幼虫肠道细菌 OTU 数目统计

Table 1 Statistics of the OTU numbers of bacteria in the gut of the 4th instar larvae of *Plutella xylostella*

样品 Samples	原始数据 Raw reads	有效序列 Valid reads	OTU 数量 Number of OTUs	覆盖度 Good's coverage
S	51 891	49 169	214	1.00
G1C	46 121	45 154	110	1.00
G1CC	62 036	59 818	427	1.00
G1WC	53 041	50 226	577	1.00
G3C	51 627	50 617	107	1.00
G3CC	54 487	50 756	1 355	0.99
G3WC	53 251	51 006	461	1.00

S：小菜蛾人工饲料品系 *P. xylostella* strain reared on artificial diet；G1C，G3C：分别为转结球甘蓝寄主饲养小菜蛾第 1 代和第 3 代 1st and 3rd generation of *P. xylostella* reared on cabbage，respectively；G1CC，G3CC：分别为转结球白菜寄主饲养小菜蛾第 1 和第 3 代 1st and 3rd generation of *P. xylostella* reared on Chinese cabbage，respectively；G1WC，G3WC：分别为转花椰菜寄主饲养小菜蛾第 1 代和第 3 代 1st and 3rd generation of *P. xylostella* reared on cauliflower，respectively. 下同 The same below.

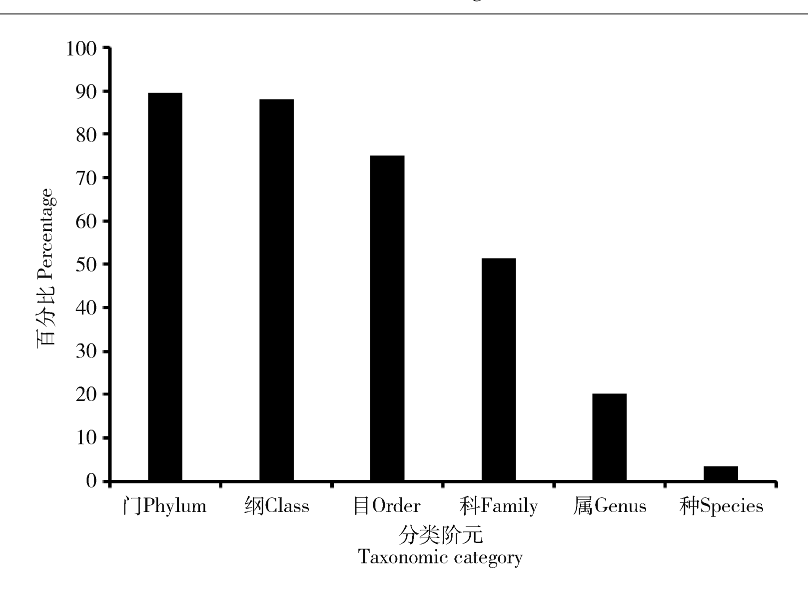


图 1 小菜蛾 4 龄幼虫肠道细菌基因组各分类水平 OTU 数量百分比

Fig. 1 Percentage of OTUs assigned to each rank of taxonomy of the gut bacterial genome in the 4th instar larvae of *Plutella xylostella*

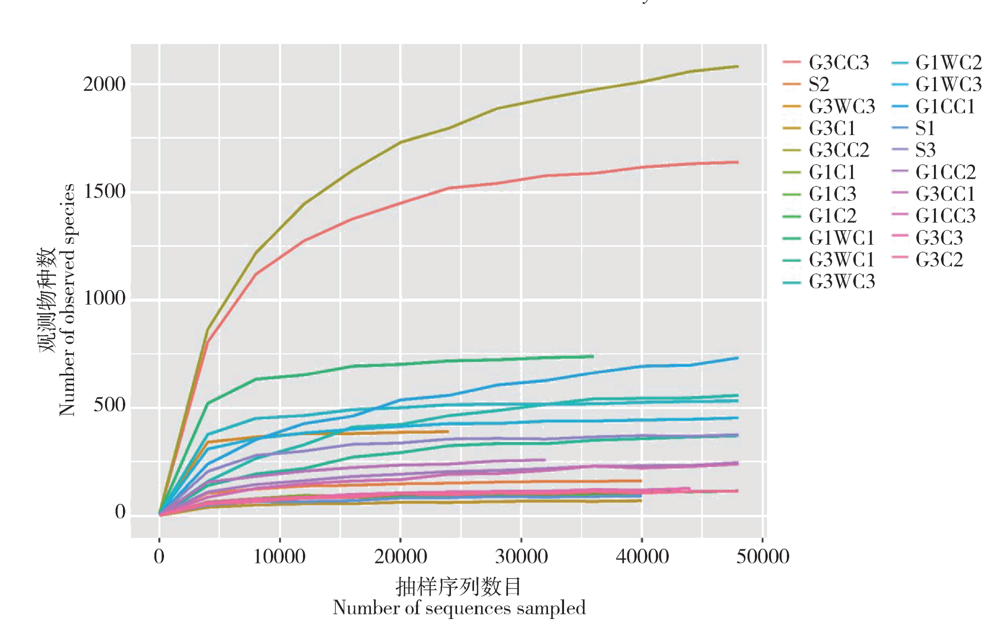


图 2 小菜蛾 4 龄幼虫肠道细菌物种稀释曲线

Fig. 2 Rarefaction curves of the observed species of gut bacteria in the 4th instar larvae of *Plutella xylostella*

每组设置 3 个重复,样品名后的数字 1 – 3 代表不同重复。Three repeats were set for each group, with the numerals 1 – 3 after the sample name representing different repeats.

2.2 取食不同食物的小菜蛾幼虫肠道细菌多样性分析

2.2.1 Alpha 多样性分析:α 多样性指数分析结果显示(表 2; 图 3: A – D),与小菜蛾人工饲料品系(S)相比,转移至寄主植物结球甘蓝上饲养的第 1 代小菜蛾幼虫(G1C)的 Shannon 和 Simpson 指数均呈显著下降趋势($P < 0.05$),说明小菜蛾取食包菜后,其肠道细菌多样性显著下降;转移至寄主植物结球白菜上饲养的第 1 代小菜蛾幼虫(G1CC)的 Simpson 指数显著上升($P < 0.01$),Shannon, Chao1 和 ACE 指数略有上升,但差异不显著($P > 0.05$),小菜蛾肠道细菌多样性和丰富度略有上升;转移至寄主植物花椰菜上饲养的第 1 代小菜蛾幼虫(G1WC)的 Shannon, Simpson, Chao1 和 ACE 指数均呈现显著上升趋势($P < 0.05$),表明小菜蛾改食花椰菜后,其肠道细菌多样性和丰富度显著增高。

比较取食不同寄主植物(结球甘蓝、结球白菜和花椰菜)的小菜蛾幼虫肠道细菌 α 多样性指数,

结果发现(图 3：E－H)，G1CC 的 Shannon 和 Simpson 指数显著高于 G1C 样品($P<0.05$)，G1WC 样品中 Shannon 指数显著高于 G1CC 样品($P<0.05$)，G1C 肠道细菌多样性和丰富度最低，而 G1WC 肠道细菌多样性和丰富度最高。

同寄主植物，第 1 代 G1C，G1CC 和 G1WC 分别和第 3 代 G3C，G3CC 和 G3WC 小菜蛾幼虫肠道细菌 α 多样性指数对比发现，Shannon，Simpson，Chao1 和 ACE 指数虽略有波动，但没有显著性差异，说明在寄主植物(结球甘蓝、结球白菜和花椰菜)上饲养至第 3 代时，小菜蛾肠道细菌多样性和丰富度没有显著性改变，其肠道菌群多样性和丰富度呈现相对稳定的状态(图 3：I－L)。

表 2　小菜蛾 4 龄幼虫肠道细菌 α 多样性指数

Table 2　Alpha diversity indices of gut bacteria in the 4th instar larvae of *Plutella xylostella*

样品 Samples	Shannon	Simpson	Chao1	ACE
S	1.6944	0.3576	215.6333	213.5866
G1C	0.7785	0.1700	112.8268	111.5640
G1CC	2.5132	0.6634	467.8884	457.3697
G1WC	4.9106	0.7324	580.7198	575.8321
G3C	0.5884	0.1287	119.8667	116.4715
G3CC	5.9664	0.7882	1 373.2242	1 368.0967
G3WC	3.0859	0.4173	481.5912	479.5907

Shannon，Simpson：肠道菌群多样性的指数 Indices of the diversity of gut bacteria；Chao1，ACE：肠道菌群丰富度的指数 Indices of the community richness of gut bacteria.

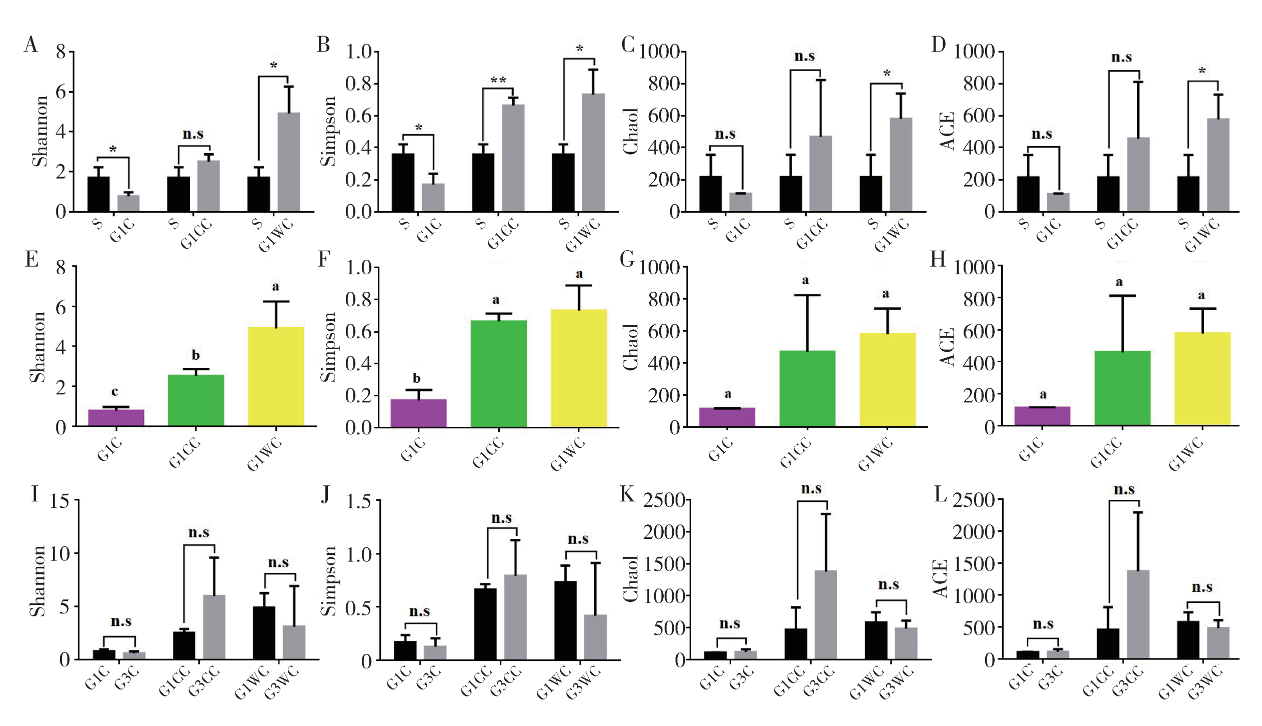


图 3　小菜蛾 4 龄幼虫肠道细菌 α 多样性指数差异分析

Fig. 3　Difference analysis of the α-diversity index of gut bacteria in the 4th instar larvae of *Plutella xylostella*

A－D：分别为人工饲料和不同寄主植物饲养的第 1 代小菜蛾肠道细菌 Shannon，Simpson，Chao1 和 ACE 指数差异分析 Analysis of difference in the Shannon，Simpson，Chao1 and ACE indices of gut bacteria in the 1st generation of *P. xylostella* feeding on artificial diet and different host plants，respectively；E－H：分别为不同寄主植物饲养的第 1 代小菜蛾肠道细菌 Shannon，Simpson，Chao1 和 ACE 指数差异分析 Analysis of the difference in the Shannon，Simpson，Chao1 and ACE indices of gut bacteria in the 1st generation of *P. xylostella* raised on different host plants，respectively；I－L：分别为不同世代小菜蛾肠道细菌 Shannon，Simpson，Chao1 和 ACE 指数差异分析 Analysis of differences in the Shannon，Simpson，Chao1 and ACE indices of gut bacteria in different generations of *P. xylostella*，respectively. 柱上不同小写字母表示不同样品间细菌 α 多样性指数差异显著($P<0.05$，SPSS 单因素方差分析)；柱上星号和双星号分别表示在 0.05 和 0.01 水平样品间差异显著(SPSS 独立样本 T 检验)。Different lowercase letters above bars indicate significant difference in the α-diversity index of bacteria among different samples ($P<0.05$，SPSS One-way ANOVA). The asterisk and double asterisk above bars indicate significant difference between samples at the 0.05 and 0.01 level，respectively (SPSS independent samples T-test).

2.2.2　小菜蛾肠道细菌组成分析：在门水平上(图 4：A 和 5：A－F)，S 样品主要由厚壁菌门(Firmicutes)组成(占 90.92%)，当转移至寄主植物(结球甘蓝、结球白菜和花椰菜)上饲养时，厚壁菌门的相对丰度显著下降($P<0.05$)，G1C 和 G1CC 肠道中变形菌门(Proteobacteria)的相对丰度显著增

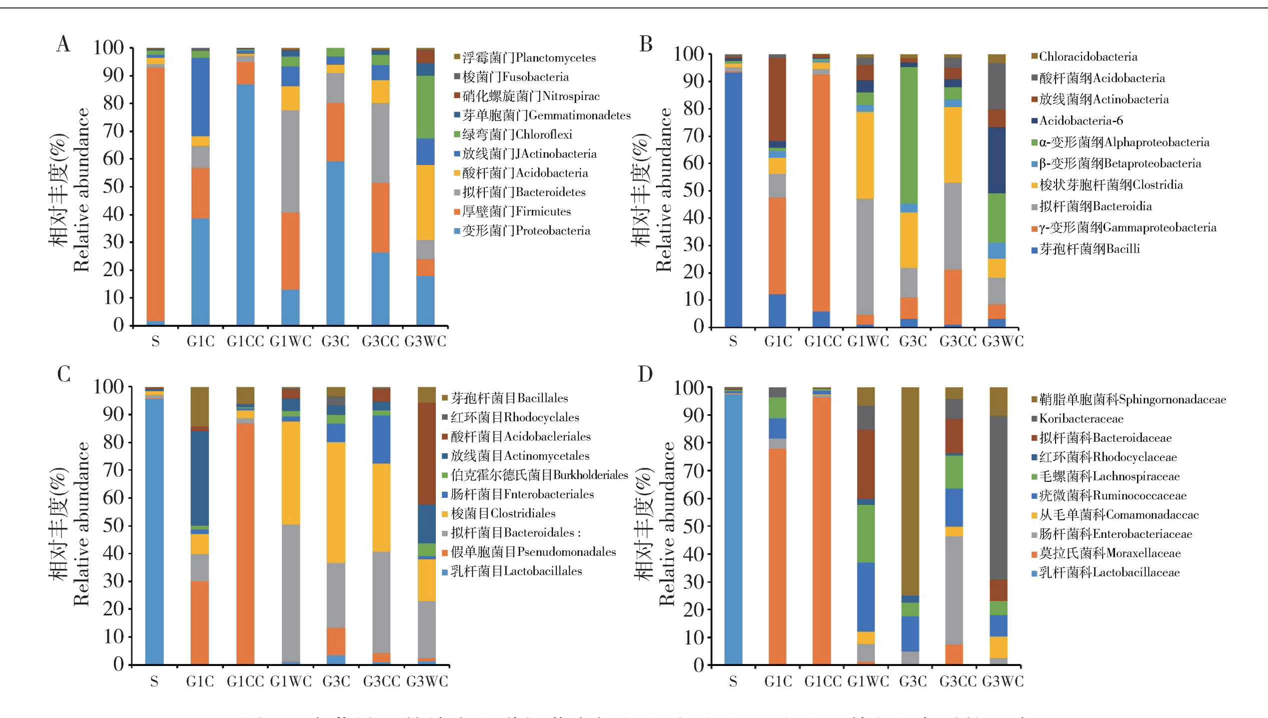


图 4 小菜蛾 4 龄幼虫肠道细菌在门(A)、纲(B)、目(C)和科(D)水平的组成

Fig. 4 Proportional composition of gut bacteria in the 4th instar larvae of *Plutella xylostella* at the phylum (A), class (B), order (C), and family (D) levels

基于 16S rDNA 序列分析,将酸杆菌门的细菌划分为 26 个亚群(Barns *et al*., 2007),图 B 中 Acidobacteria-6 是酸杆菌门中的一个分类代表。Based on the 16S rDNA sequence analysis, the phylum of Acidobacteria was divided into 26 subgroups (Barns *et al*., 2007), and the Acidobacteria-6 in Fig. 3(B) was one of the taxonomic representatives in Acidobacteria.

加($P<0.05$),其中 G1CC 肠道中变形菌门(Proteobacteria)的相对丰度显著高于 G1C 和 G1WC($P<0.05$);此外,G1WC 肠道细菌中拟杆菌门(Bacteroidetes)和芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)相对丰度显著增加($P<0.05$),且显著高于转移至寄主结球甘蓝 G1C 和结球白菜 G1CC 饲养的($P<0.05$),拟杆菌门(Bacteroidetes)(32.34%)成为 G1WC 小菜蛾肠道中的优势菌门。当在寄主植物结球白菜上饲养至第 3 代(G3CC)时,其肠道细菌中放线菌门(Actinobacteria)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)和硝化螺旋菌门(Nitrospirae)的相对丰度显著上升($P<0.05$)(图 5: G–I),但变形菌门(Proteobacteria)仍是其优势菌门(图 4: A)。

在纲水平上,S 肠道细菌样品中优势菌纲为芽孢杆菌纲(Bacilli),占总含量的 89.42%(图 4: B),转移寄主到结球甘蓝、结球白菜和花椰菜饲养后,芽孢杆菌纲的相对丰度下降。随着在寄主植物结球甘蓝和结球白菜上饲养代数的增加,γ-变形菌纲(Gammaproteobacteria)相对丰度呈下降趋势;α-变形菌纲(Alphaproteobacteria)、拟杆菌纲(Bacteroidia)和梭状芽孢杆菌纲(Clostridia)相对丰度呈上升趋势。以花椰菜为食的小菜蛾肠道细菌中拟杆菌纲(Bacteroidia)和梭状芽孢杆菌纲(Clostridia)相对丰度随着代数增加而减少,而 α-变形菌纲和酸杆菌纲(Acidobacteria)相对丰度随着代数增加而增加。

在目水平上(图 4: C; 5: J–Q),S 样品肠道细菌主要由乳杆菌目(Lactobacillales)(89.31%)组成,当转移至寄主植物(结球甘蓝、结球白菜和花椰菜)上饲养时,乳杆菌目的相对丰度显著下降($P<0.05$)。转移至寄主植物结球甘蓝上饲养时(G1C),其优势菌目是放线菌目(Actinomycetales)(26.37%);转移至寄主植物结球白菜上饲养时(G1CC),其优势菌目是假单胞菌目(Pseudomonadales)(81.73%),且其显著高于 G1WC 样品($P<0.05$);当转移至寄主植物花椰菜上饲养时(G1WC),其优势菌目是拟杆菌目(Bacteroidales)(31.27%),且其相对丰度显著高于 G1CC 样品($P<0.05$)。在寄主植物结球甘蓝上饲养至第 3 代时(G3C),芽孢杆菌目(Bacillales)的相对丰度比第 1 代的显著下降($P<0.05$)(图 5: R);在寄主植物结球白菜上饲养至第 3 代时(G3CC),芽孢杆菌目(Bacillales)($P<0.01$)和假单胞菌目(Pseudomonadales)的相对丰度显著下降(P <

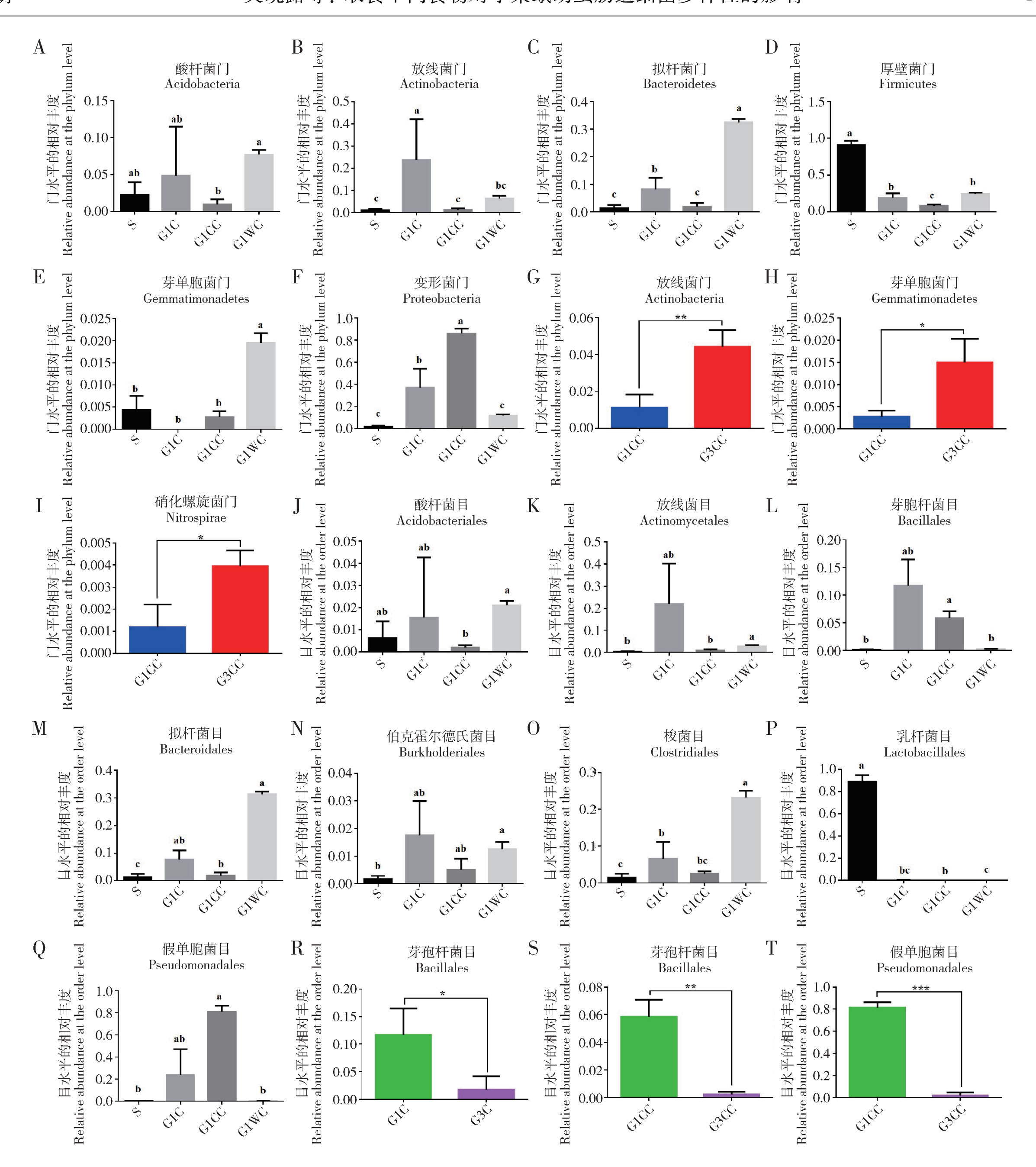


图 5　小菜蛾 4 龄幼虫肠道 Top 10 最丰富菌群相对丰度差异分析

Fig. 5　Analysis of difference in the relative abundance of top 10 most abundant gut bacteria in the 4th instar larvae of *Plutella xylostella*

A－F, J－Q：人工饲料和不同寄主植物饲养的小菜蛾肠道细菌相对丰度差异分析 Analysis of difference in the relative abundance of gut bacteria in *P. xylostella* feeding on artificial diet and different host plants；G－I：以结球白菜为食不同世代小菜蛾肠道菌群门水平相对丰度差异分析 Analysis of difference in the relative abundance of gut bacteria in *P. xylostella* feeding on Chinese cabbage for different generations at the phylum level；R－T：分别为结球甘蓝饲养和结球白菜饲养不同世代小菜蛾肠道菌群目水平相对丰度差异分析 Analysis of difference in the relative abundance of gut bacteria in *P. xylostella* feeding on cabbage and Chinese cabbage, respectively, for different generations at the order level. 柱上不同小写字母表示不同样品间菌群相对丰度差异显著($P<0.05$, SPSS 单因素方差分析)；柱上星号、双星号和三星号分别表示在 0.05, 0.01 和 0.001 水平样品间差异显著(SPSS 独立样本 T 检验)。Different lowercase letters above bars indicate significant difference in the relative abundance of bacteria among different samples ($P<0.05$, SPSS One-way ANOVA). The asterisk, double asterisk and tri-asterisk above bars indicate significant difference between samples at the 0.05, 0.01 and 0.001 level, respectively (SPSS independent samples T-test).

0.001)(图 5：S, T)。

在科水平上(图 4：D)，S 肠道细菌样品中的优势菌科是乳杆菌科(Lactobacillaceae)(80.24%)；G1C 和 G1CC 样品中的优势菌科是莫拉氏菌科

(Moraxellaceae)(分别为 23.08% 和 81.42%),G1WC 样品中的优势菌科是疣微菌科(Ruminococcaceae)(4.58%)和拟杆菌科(Bacteroidaceae)(4.58%)。在寄主植物结球甘蓝上饲养至第 3 代时(G3C),其优势菌科是鞘脂单胞菌科(Sphingomonadaceae)(43.48%);在寄主植物结球白菜上饲养至第 3 代时(G3CC),其优势菌科是肠杆菌科(Enterobacteriaceae)(11.82%);在寄主植物花椰菜上饲养至第 3 代时(G3WC),其优势菌科是 Koribacteraceae(6.42%)。

2.2.3 Beta 多样性分析:在门的水平上,对各样品进行主成分分析(principal components analysis, PCA)(图 6: A),分析结果表明以人工饲料为食的 S 样品 3 个重复之间聚集在一起,并与以植物为食(G1C, G1CC, G1WC, G3C, G3CC 和 G3WC)的样品分布在不同的区间,说明取食饲料的小菜蛾和取食植物的小菜蛾其肠道细菌组成和结构差异较大;此外,取食不同植物的小菜蛾肠道菌群虽然相对较为集中(如 G3CC, G3WC 和 G1WC 聚集在一起),但仍然存在一定差异,表明不同植物饲养的小菜蛾其肠道微生物具有一定的特异性。

利用 UPGMA 对小菜蛾肠道细菌样品进行聚类分析(图 6: B),以结球甘蓝(G3C)、结球白菜(G1CC 和 G3CC)和花椰菜(G1WC)为食的样品先聚为一个大支,再与 S 样品聚集在一起,形成一个节点,这与 PCA 分析结果相似,表明以人工饲料为食的小菜蛾肠道菌群多样性与以植物为食的小菜蛾肠道菌群存在较大差异,但该聚类图中转结球甘蓝后第 1 代小菜蛾(G1C)和转花椰菜后第 3 代小菜蛾(G3WC)样品与以其他植物为食(G3C, G1CC, G3CC 和 G1WC)的样品距离较远,可能是因为 G1C 和 G3WC 样品中,各有一个重复偏差较大,从而导致聚类误差,但该结果仍需要后续进一步验证。

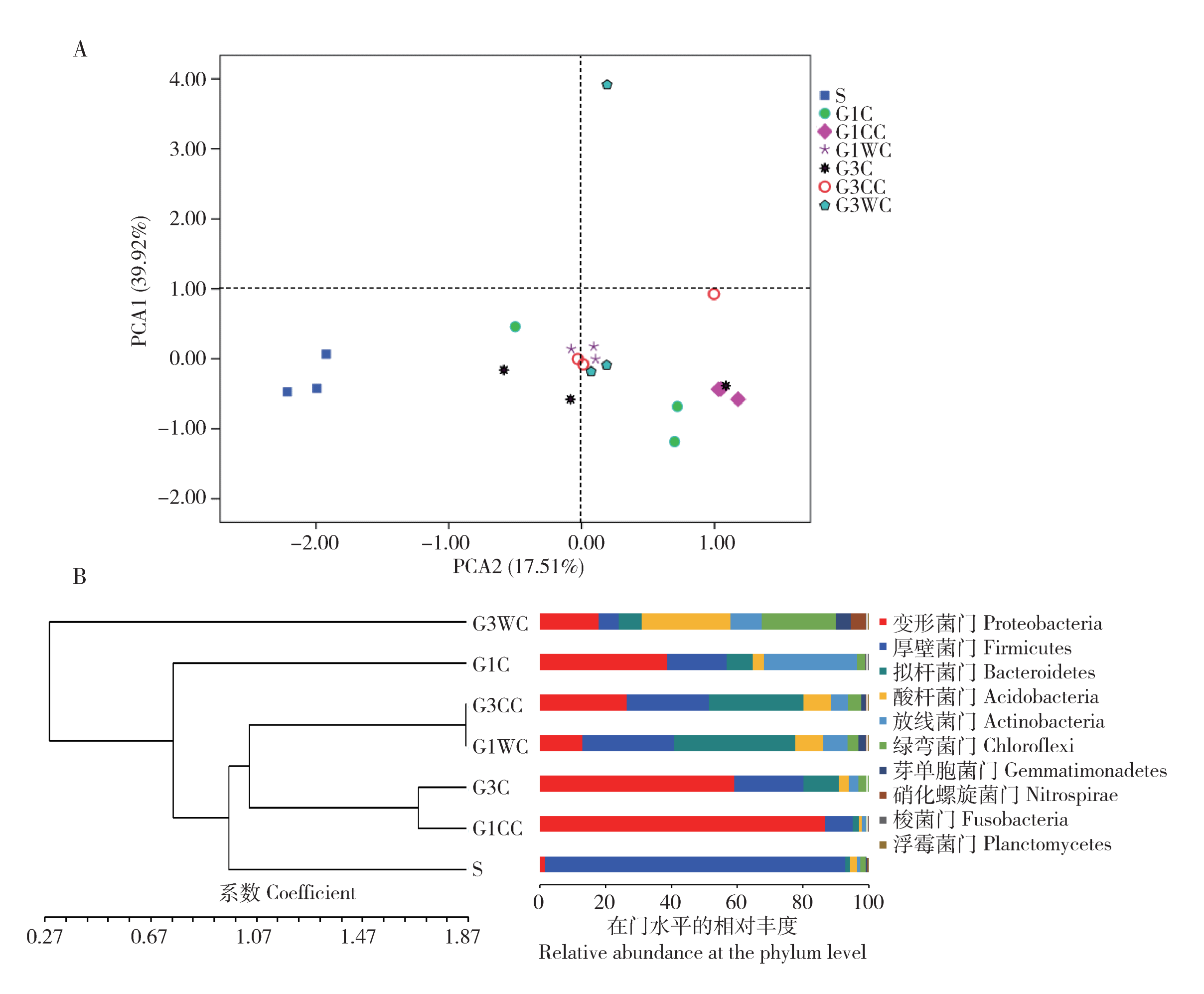


图 6 小菜蛾 4 龄幼虫肠道细菌门水平 Beta 多样性分析

Fig. 6 Beta diversity analysis of gut bacteria in the 4th instar larvae of *Plutella xylostella* at the phylum level

A: 主成分分析 Principal component analysis (PCA); B: UPGMA 聚类分析 UPGMA cluster analysis.

2.3 菌群代谢功能分析

利用 KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)数据库,对 S 样本和转寄主植物后第 1 代小菜蛾肠道细菌基因功能预测分析发现(图 7),小菜蛾肠道菌群富集了高丰度的代谢功能基因。以植物为食(G1C, G1CC 和 G1WC)的小菜蛾肠道菌群新陈代谢功能基因相对丰度比人工饲料 S 样品的显著增高($P<0.05$),以结球白菜为食 G1CC 样品肠道菌群新陈代谢功能基因相对丰度最高(56.01%)。进一步分析发现(图 8),肠道细菌基因主要参与碳水化合物代谢、氨基酸代谢和能量代谢。以植物为食的小菜蛾样品(G1C, G1CC 和 G1WC)肠道菌群氨基酸代谢相关基因的丰度显著高于以人工饲料为食的 S 样品($P<0.05$);而以人工饲料为食的 S 样品,其菌群碳水化合物代谢基因相对丰度则显著高于以植物为食样品(G1C, G1CC 和 G1WC)($P<0.05$)。以结球白菜为食的 G1CC 样品中肠道菌群氨基酸代谢基因相对丰度显著高于以花椰菜为食的 G1WC 样品的($P<0.05$);而 G1WC 样品菌群能量代谢基因相对丰度显著高于 G1C 和 G1CC 样品($P<0.05$);与 G1C 和 G1WC 样品相比,G1CC 样品菌群碳水化合物代谢基因相对丰度最低。

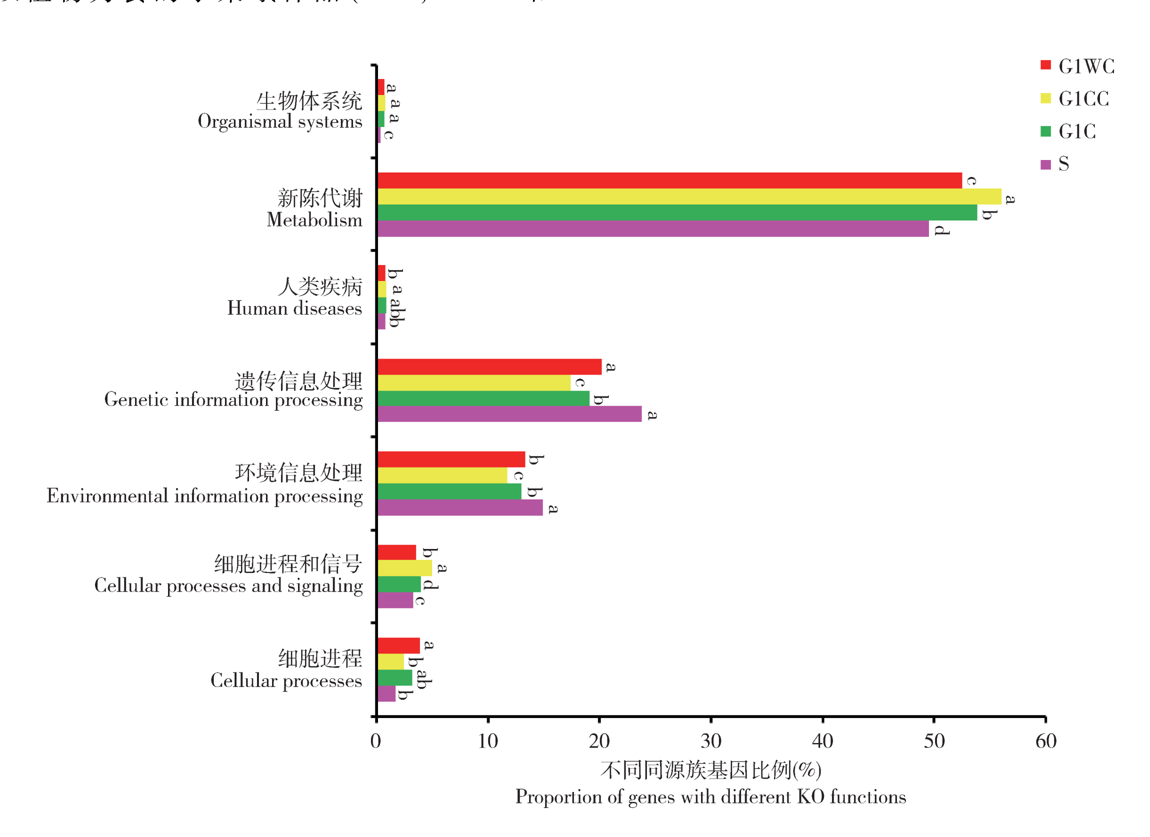


图 7 小菜蛾 4 龄幼虫肠道细菌宏基因组 KEGG 同源族分析

Fig. 7 KEGG ortholog (KO) group annotation of the gut bacterial metagenome of the 4th instar larvae of *Plutella xylostella*

柱状图上不同小写字母表示同一基因族内不同样品间差异显著($P<0.05$, SPSS 单因素方差分析)。Different lowercase letters above bars indicate significant difference among samples of the same gene group ($P<0.05$, SPSS One-way ANOVA). 图 8 同 The same for Fig. 8.

3 讨论

本研究对小菜蛾人工饲料品系(S)及其转寄主植物(结球甘蓝、结球白菜和花椰菜)后第 1 代(分别为 G1C, G1CC 和 G1WC)和第 3 代(分别为 G3C, G3CC 和 G3WC)的 4 龄幼虫样品中肠道细菌多样性和丰富度进行研究。Alpha 多样性分析发现,与 S 相比,G1CC 和 G1WC 肠道细菌多样性和丰富度呈现上升趋势,且两寄主植物间肠道细菌多样性也存在差异;G1C 肠道细菌多样性和丰富度显著下降,并显著低于 G1CC 和 G1WC 的小菜蛾肠道细菌多样性。前期研究表明以不同寄主植物为食的小菜蛾其生长和繁殖都有差异(李引等, 2019),这就会导致其肠道发育有差异。此外,不同寄主植物会引起昆虫肠道微环境存在差异(Lee *et al.*, 2017),进而导

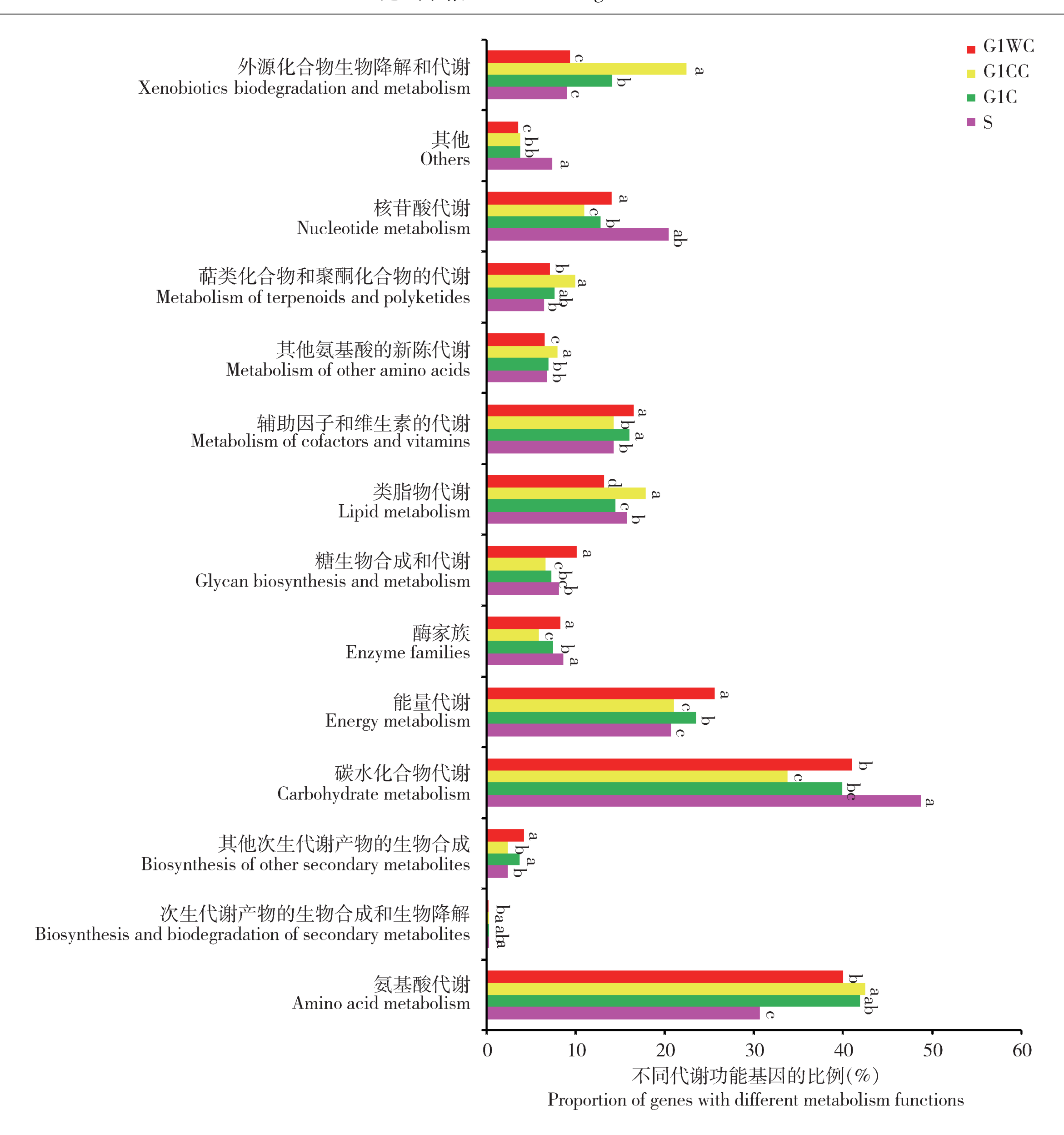


图 8 小菜蛾 4 龄幼虫肠道细菌宏基因组在 KEGG 代谢功能上的分析

Fig. 8 KEGG metabolic functions of the gut bacterial metagenome of the 4th instar larvae of *Plutella xylostella*

致其肠道微生物多样性的差异。研究表明棉铃虫肠道细菌可能来源于寄主植物叶片携带的细菌(Priya *et al*., 2012),植物叶面和叶际中含有丰富的菌群(Lambais *et al*., 2006),可能对植食性昆虫肠道菌群的形成起重要作用(Jackson and Denney, 2011; Priya *et al*., 2012)。此外,Tinker 和 Ottesen (2016)的研究也发现,美洲大蠊 *Periplaneta americana* 肠道细菌对膳食基质利用具有偏好性,不能全部或平均利用膳食基质,肠道细菌的丰度取决于膳食基质的组成和含量,食物的改变会导致肠道细菌可利用膳食基质发生变化,从而导致肠道菌群发生改变。

以人工饲料为食的小菜蛾品系(S)肠道细菌主要由厚壁菌门(Firmicutes)(90.92%)组成,前期研究发现:以人工饲料为食的昆虫,例如欧洲玉米螟 *Ostrinia nubilalis* (Belda *et al*., 2011)、棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Xiang *et al*., 2007)和斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* (蓝波妙, 2016)的肠道优势菌群均是厚壁菌门(Firmicutes),表明厚壁菌门(Firmicutes)可能在以饲料为食的昆虫肠道中发挥重要的作用。本研究还发现 S 样品的肠道细菌碳水化合物代谢基因相对丰度高于以植物为食的样品(G1C, G1CC 和 G1WC)(图 8),厚壁菌门(Firmicutes)中的乳杆菌科(Lactobacillaceae)是 S 样品中的优势菌科,研究表明,乳杆菌科中的乳杆菌属 *Lactobacillus* 能够合成果胶降解酶、糖苷水解酶、多糖水解酶等多种碳水化合物降解酶,将多糖转化为

可供宿主利用的营养物质(Xu *et al.*, 2007)。此外,人工饲料中含有大量的小麦胚芽粉,其碳水化合物的含量(47.9 g/100 g)高于植物叶片(结球甘蓝:6.00 g/100g;结球白菜:2.20 g/100g;花椰菜:6.64 g/100 g)中碳水化合物的含量(Manchali *et al.*, 2012),因此需要肠道微生物协助其降解相应的碳水化合物。

转寄主植物后,G1C 和 G1CC 肠道的优势菌门是变形菌门(Proteobacteria);G1WC 肠道第一优势菌门是拟杆菌门(Bacteroidetes)(32.34%),第二优势菌门是变形菌门(Proteobacteria)(11.37%)。以自然食物或植物为食的昆虫,例如柑橘大实蝇 *Bactrocera minax* (Wang *et al.*, 2014)、茶尺蠖 *Ectropis obliqua* (靳亮等, 2013)、家蝇 *Musca domestica* (Gupta *et al.*, 2011)和褐飞虱 *Nilaparvata lugens* (王天召等, 2019)的肠道优势菌门均是变形菌门(Proteobacteria),表明变形菌门(Proteobacteria)在以自然食物为食的昆虫肠道中广泛存在。以植物为食的样品肠道细菌氨基酸代谢基因相对丰度高于 S 样品的(图 8),可能是由于人工饲料中营养均衡,氨基酸含量丰富,不需要额外的合成和供给,而以植物为食时,植物中的氨基酸含量可能不足以完全满足小菜蛾生长发育的需要,因此需要肠道细菌协助合成,我们前期研究也发现,小菜蛾肠道细菌具有为宿主合成和供给必需氨基酸的能力(Xia *et al.*, 2017)。上述结果表明,小菜蛾肠道菌群的功能与食物紧密关联,其可能在食物的消化和吸收以及营养供给方面发挥重要的作用。

与在寄主植物上饲养 1 代后的小菜蛾幼虫肠道细菌对比,饲养 3 代后,小菜蛾幼虫肠道细菌多样性指数没有显著性改变,但在菌群丰度上发生了变化。在 G3C 肠道中,芽孢杆菌目(Bacillales)相对丰度显著下降;G3CC 肠道中,放线菌门(Actinobacteria)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)和硝化螺旋菌门(Nitrospirae)相对丰度呈显著上升趋势,而芽孢杆菌目(Bacillales)和假单胞菌目(Pseudomonadeles)相对丰度呈显著下降趋势;G1WC 和 G3WC 之间菌群丰度没有显著性改变,上述结果表明小菜蛾肠道细菌能够针对食物的改变而快速作出调整。基于转寄主植物后不同代时之间小菜蛾肠道细菌丰度上的差异,提示我们肠道菌群在小菜蛾中的定殖,并且形成稳定的微生物区系,可能是宿主昆虫与寄主植物长期互作和适应的结果,后续研究将进一步增加小菜蛾在寄主植物上的饲养代数,以分析小菜蛾肠道细菌对寄主植物的适应性。

昆虫肠道微生物与宿主昆虫之间相互依赖,协同进化。本研究明确了不同食物对小菜蛾肠道细菌多样性和群落构成具有重要的影响,且小菜蛾肠道微生物不仅在群落结构上,而且在其代谢功能上均能协助宿主适应相应的食物。我们的工作为进一步探讨小菜蛾肠道微生物的变化规律,研究肠道细菌与食物之间的互作奠定了良好的基础,有利于今后进一步研究和利用肠道微生物,为小菜蛾生物防治提供新的视角和方向。

参考文献(References)

Barns SM, Cain EC, Sommerville L, Kuske CR, 2007. Acidobacteria phylum sequences in uranium-contaminated subsurface sediments greatly expand the known diversity within the phylum. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73(9): 3113–3116.

Belda E, Pedrola L, Peretó J, Martínez-Blanch JF, Montagud A, Navarro E, Urchueguía J, Ramón D, Moya A, Porcar M, 2011. Microbial diversity in the midguts of field and lab-reared populations of the European corn borer *Ostrinia nubilalis*. *PLoS ONE*, 6(6): e21751.

Broderick NA, Raff KF, Goodman RM, Handelsman J, 2004. Census of the bacterial community of the gypsy moth larval midgut by using culturing and culture-independent methods. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70(1): 293–300.

Fadrosh DW, Ma B, Gajer P, Sengamalay N, Ott S, Brotman MR, Rave J, 2014. An improved dual-indexing approach for multiplexed 16S rRNA gene sequencing on the Illumina MiSeq platform. *Microbiome*, 2(1): 6.

Furlong MJ, Wright DJ, Dosdall ML, 2013. Diamondback moth ecology and management: problems, progress, and prospects. *Annu. Rev. Entomol.*, 58: 517–541.

Gupta AK, Nayduch D, Verma P, Shah B, Ghate HV, Patole1 MS, Shouche YS, 2011. Phylogenetic characterization of bacteria in the gut of house flies (*Musca domestica* L.). *FEMS Microbiol. Ecol.*, 79(3): 581–593.

Indiragandhi P, Anandham R, Madhaiyan M, Sa TM, 2008. Characterization of plant growth-promoting traits of bacteria isolated from larval guts of diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Curr. Microbiol.*, 56(4): 327–333.

Jackson CR, Denney WC, 2011. Annual and seasonal variation in the phyllosphere bacterial community associated with leaves of the southern magnolia (*Magnolia grandiflora*). *Microb. Ecol.*, 61(1): 113–122.

Jin L, Wang JC, Wang HX, Zhang JG, Yang G, Jin HY, 2013. Bacterial community in midguts of *Ectropic oblique* larvae by PCR-DGGE and 16S rRNA gene library analysis. *Jiangxi Sci.*, 31(6): 759–763. [靳亮, 王金昌, 王洪秀, 张贱根, 杨罡, 靳海燕, 2013. 16S rRNA 基因的 PCR-DGGE 技术分析茶尺蠖幼虫肠道细菌种群结构及多样性. 江西科学, 31(6): 759–763]

Kim JM, Choi MY, Kim JW, Lee SA, Ahn JH, Song J, Kim SH, Weon HY, 2017. Effects of diet type, developmental stage, and gut compartment in the gut bacterial communities of two Cerambycidae species (Coleoptera). *J. Microbiol.*, 55(1): 21-30.

Lambais MR, Crowley DE, Cury JC, Bull RC, Rodrigues RR, 2006. Bacterial diversity in tree canopies of the Atlantic forest. *Science*, 312(5782): 1917.

Lan BM, 2016. Diversity and Function of Gut Bacterial Symbionts of *Spodoptera litura*. MSc Thesis, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou. [蓝波妙, 2016. 斜纹夜蛾肠道细菌多样性及其功能研究. 福州: 福建农林大学硕士学位论文]

Lee JH, Lee KA, Lee WJ, 2017. Microbiota, gut physiology, and insect immunity. In: Ligoxygakis P ed. Insect Immunity. *Adv. Insect Physiol.*, 52: 111-138.

Li WH, Jin DC, Li FL, Cheng Y, Jin JX, 2017. Metabolic phenomics of bacterium *Pantoea* sp. from larval gut of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Symbiosis*, 72(2): 135-142.

Li WH, Li FL, Zhou YH, Cheng Y, Jin JX, 2018. Biolog-ECO analysis of the functional diversity of the gut microbial community of deltamethrin-resistant and -sensitive diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) larvae. *Chin. J. Appl. Entomol.*, 55(2): 237-242. [李文红, 李凤良, 周宇航, 程英, 金剑雪, 2018. Biolog-ECO 解析小菜蛾溴氰菊酯抗感品系肠道微生物群落功能多样性特征. 应用昆虫学报, 55(2): 237-242]

Li Y, Leng CM, Hu D, Wu JX, Li YP, 2019. Effects of host plant on growth, development and fecundity of *Plutella xylostella* L. *Acta Agric. Bor.-Occid. Sin.*, 28(3): 475-480. [李引, 冷春蒙, 胡迪, 仵均祥, 李怡萍, 2019. 不同寄主植物对小菜蛾生长发育和繁殖的影响. 西北农业学报, 28(3): 475-480]

Li ZY, Feng X, Liu SS, You MS, Furlong MJ, 2016. Biology, ecology and management of the diamondback moth in China. *Annu. Rev. Entomol.*, 61: 277-296.

Manchali S, Murthy KNC, Patil BS, 2012. Crucial facts about health benefits of popular cruciferous vegetables. *J. Funct. Foods*, 4(1): 94-106.

Mikaelyan A, Dietrich C, Köhler T, Poulsen M, Sillam-Dussès D, Brune A, 2015. Diet is the primary determinant of bacterial community structure in the guts of higher termites. *Mol. Ecol.*, 24(20): 5284-5295.

Paramasiva I, Sharma HC, Krishnayya PV, 2014. Antibiotics influence the toxicity of the delta endotoxins of *Bacillus thuringiensis* towards the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. *BMC Microbiol.*, 14(1): 200.

Pérez-Cobas AE, Maiques E, Angelova A, Carrasco P, Moya A, Latorre A, 2015. Diet shapes the gut microbiota of the omnivorous cockroach *Blattella germanica*. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 91(4): fiv022.

Priya NG, Ojha A, Kajla MK, Raj A, Rajagopal R, 2012. Host plant induced variation in gut bacteria of host plant induced variation in gut bacteria of *Helicoverpa armigera*. *PLoS ONE*, 7(1): e30768.

Ramya SL, Venkatesan T, Murthy KS, Jalali SK, Verghese A, 2016. Detection of carboxylesterase and esterase activity in culturable gut bacterial flora isolated from diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus), from India and its possible role in indoxacarb degradation. *Braz. J. Microbiol.*, 47(2): 327-336.

Sharon G, Segal D, Ringo JM, Hefetz A, Zilber-Rosenberg I, Rosenberg E, 2010. Commensal bacteria play a role in mating preference of *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107(46): 20051-20056.

Sharon G, Segal D, Zilber-Rosenberg I, Rosenberg E, 2011. Symbiotic bacteria are responsible for diet-induced mating preference in *Drosophila melanogaster*, providing support for the hologenome concept of evolution. *Gut Microbes*, 2(3): 190-192.

Shen JH, Wang Q, Xia XF, You MS, 2018. Effect of antibiotics and gut bacteria on fitness of diamondback moth *Plutella xylostella* (L.). *Acta Microbiol. Sin.*, 58(6): 1025-1035. [沈金红, 王倩, 夏晓峰, 尤民生, 2018. 抗生素和肠道细菌对小菜蛾适合度的影响. 微生物学报, 58(6): 1025-1035]

Strano CP, Malacrinò A, Campolo O, Palmeri V, 2018. Influence of host plant on *Thaumetopoea pityocampa* gut bacterial community. *Microl. Ecol.*, 75(2): 487-494.

Takatsuka J, Kunimi Y, 2000. Intestinal bacteria affect growth of *Bacillus thuringiensis* in larvae of the oriental tea tortrix, *Homona magnanima* Diakonoff (Lepidoptera: Tortricidae). *J. Invertebr. Pathol.*, 76(3): 222-226.

Tinker KA, Ottesen EA, 2016. The core gut microbiome of the American cockroach, *Periplaneta americana*, is stable and resilient to dietary shifts. *Appl. Environ. Microbiol.*, 82(22): 6603-6610.

Vollaard EJ, Clasener HAL, 1994. Colonization resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 38(7): 409-414.

Wada-Katsumata A, Zurek L, Nalyanya G, Roelofs WL, Zhang A, Schal C, 2015. Gut bacteria mediate aggregation in the German cockroach. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 112(51): 15678-15683.

Wang AL, Yao ZC, Zheng WW, Zhang HY, 2014. Bacterial communities in the gut and reproductive organs of *Bactrocera minax* (Diptera: Tephritidae) based on 454 pyrosequencing. *PLoS ONE*, 9(9): e106988.

Wang TZ, Wang ZL, Zhu HF, Wang ZY, Yu XP, 2019. Analysis of the gut microbial diversity of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae) by high-throughput sequencing. *Acta Entomol. Sin.*, 62(3): 323-333. [王天召, 王正亮, 朱杭锋, 王紫晔, 俞晓平, 2019. 基于高通量测序的褐飞虱肠道微生物多样性分析. 昆虫学报, 61(3): 323-333]

Wu K, Yang B, Huang WR, Dobens LL, Song HS, Ling EJ, 2016. Gut immunity in Lepidopteran insects. *Dev. Comp. Immunol.*, 64: 65-74.

Xia X, Sun B, Gurr GM, Vasseur L, Xue M, You M, 2018. Gut microbiota mediate insecticide resistance in the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). *Front. Microbiol.*, 9: 25.

Xia XF, Zheng DD, Zhong HZ, Qin BC, Gurr GM, Vasseur L, Lin HL, Bai JL, He WY, You MS, 2013. DNA sequencing reveals the

midgut microbiota of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) and a possible relationship with insecticide resistance. *PLoS ONE*, 8(7): e68852.

Xia XF, Zhong HZ, Wang Y, Vasseur L, Song FQ, You MS, Li Y, Gurr GM, Qin BC, Lin JH, Zheng DD, Lin HL, 2017. Metagenomic sequencing of diamondback moth gut microbiome unveils key holobiont adaptations for herbivory. *Front. Microbiol.*, 8: 663.

Xiang H, Wei GF, Jia SH, Huang JH, Miao XX, Zhou ZH, Zhao LP, Huang YP, 2007. Microbial communities in the larval midgut of laboratory and field populations of cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*). *Can. J. Microbiol.*, 52(11): 1085 - 1092.

Xiang YQ, Wang XQ, Feng W, Zhou W, Xie HX, Wan YJ, 2010. Comparative analysis of the composition of domain intestinal microflora in silkworm reared with different forages. *Acta Ecol. Sin.*, 30(14): 3875 - 3882. [向芸庆, 王晓强, 冯伟, 周围, 谢洪霞, 万永继, 2010. 不同饲料饲养家蚕其肠道微生态优势菌群类型的组成及差异性. 生态学报, 30(14): 3875 - 3882]

Xu J, Mahowald MA, Lay RE, Lozupone CA, Hamady M, Martens EC, Henrissat B, Coutinho PM, Minx P, Latreille P, Cordum H, Van Brunt A, Kim K, Fulton RS, Fulton LA, Clifton SW, Wilson RK, Knight RD, Gordon JI, 2007. Evolution of symbiotic bacteria in the distal human intestine. *PLoS Biol.*, 5(7): 1574 - 1586.

（责任编辑：马丽萍）